

ÄNDERUNGEN DES PROTEINANTEILS
IN DEN LIPOPROTEINFRAKTIONEN DES PLASMAS
UNTER DEM EINFLUSS
VERSCHIEDENER FORMELDIÄTEN

Alfred Veit

—

1900

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 26 81 77

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität

München

Direktor: Professor Dr. N. Zöllner

Änderungen des Proteinanteils in den Lipoprotein-
fraktionen des Plasmas unter dem Einfluß verschie-
dener Formeldiäten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Alfred Veit

München 1980

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Günther Wolfram

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Nepomuk Zöllner

Dekan: Prof. Dr. med. Wolfgang Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 14.11.1980



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Methodik	
2.1. Formeldiäten	3
2.2. Versuchspersonen	5
2.3. Versuchsablauf	6
2.4. Bestimmungsmethoden	
2.4.1. Proteinbestimmung mit Hilfe des Folin-Ciocalteu-Phenol-Reagenz	7
2.4.2. Quantitative β -Lipoprotein- bestimmung mit Hilfe der radialen Immundiffusion nach Mancini	9
2.4.3. Ultrazentrifugation der Plasma- lipoproteine	10
2.4.4. Berechnung der Proteinkonzentra- tionen	11
3. Ergebnisse	
3.1. Verhalten der Proteinkonzentrationen in der VLDL-Fraktion des Plasma	15
3.2. Verhalten der Proteinkonzentrationen in der LDL-Fraktion nach der Lowry-Methode und der β -Lipoproteinkonzentrationen nach der Mancini- Methode im Plasma	17
3.3. Verhalten der Proteinkonzentrationen in der HDL-Fraktion des Plasma	18
3.4. Verhalten des Gesamteiweißes im Plasma und die Errechnung der Ausbeute in den UZ-Fraktionen	19

4. Diskussion	Seite 20
4.1. Einfluß der Formeldiäten auf den Protein- anteil in den LDL	21
4.2. Einfluß der Formeldiäten auf den Protein- anteil in den VLDL	22
4.3. Einfluß der Formeldiäten auf den Protein- anteil in den HDL	23
5. Zusammenfassung	25
6. Tabellen	26
7. Literatur	44

Einleitung

Die Blutfette werden durch die Art und die Menge des Nahrungsfettes beeinflusst. Eine Reduktion des Fettverzehr führt ebenso, wie eine anteilmäßige höhere Zufuhr an mehrfach ungesättigten Fettsäuren zu einer Abnahme des Serumcholesterinspiegels (26,27).

Der Triglyceridspiegel wird von der Art und Menge der zugeführten Kohlenhydraten, ebenso aber auch durch die zugeführten Fett- und Alkoholmengen bestimmt (28).

Die Blutfette sind als hydrophobe Stoffe nicht wasserlöslich und werden deshalb im Plasma von einer Proteinhülle umgeben und als Lipoproteine transportiert. Da diese Lipoproteine aufgrund ihrer polaren Struktur eine elektrische Ladung besitzen, können sie im elektrischen Feld in einzelne Fraktionen getrennt werden. Die Technik der Lipoproteinelektrophorese wurde 1963 von Lees und Hatch entwickelt und erlaubt eine Einteilung der Lipoproteine in Chylomikronen, α -, β - und prae- β -Lipoproteine, die sich durch ihre Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Feld unterscheiden. 1923 wurde die Technik der Ultrazentrifugation von Svedberg und Nichols entwickelt, welche später zur Trennung der Lipoproteine Verwendung fand.

Aufgrund ihrer Dichte lassen sich die Lipoproteine sehr geringer Dichte (VLDL), geringer Dichte (LDL) und hoher

Dichte (HDL) unterscheiden. Diese werden durch Zentrifugation bei einem mehrfachen der Erdbeschleunigung in Dichtelösungen abgetrennt.

1967 kam auf Vorschlag von Fredrickson und Mitarbeitern eine Einteilung der Hyperlipoproteinämien in 5 Typen in Gebrauch, welche sich mit Hilfe der Elektrophorese und der Ultrazentrifuge darstellen lassen.

Diese Einteilung erwies sich für die Klinik als bedeutsam, da die einzelnen Typen der Hyperlipoproteinämie mit einem unterschiedlichen Risiko vaskulärer Erkrankungen vergesellschaftet sind.

Obwohl der Einfluß von Ernährungsfaktoren auf Cholesterin- und Triglyceridspiegel des Serums häufig untersucht worden ist, sind die Einflüsse auf die Lipoproteine nicht so eindeutig (23).

In einem Ernährungsexperiment sollten deshalb die Veränderungen des Proteingehalts in den mit der präparativen UZ getrennten Lipoproteinfractionen des Plasmas, sowie die immunologisch bestimmten LDL-Apoproteine unter Formeldiäten mit verschiedenen Fettanteilen untersucht werden.

2. Methodik

2.1. Formeldiäten

Alle verwendeten Formeldiäten bestanden aus 15 Energie % Eiweiß, 52 Energie % Kohlenhydrate und aus 33 Energie % Fett. Für 3000 Kcal sind die erforderlichen Mengen Eiweiß in 122,3 g Hyperprotidine, die Kohlenhydrate in 412,7 g Maltodextrin 19 enthalten. Die Zusammensetzung des Fettes (110,0 g) wurde bei den einzelnen Formeldiäten verändert. Die Mineralstoffzufuhr erfolgte mit 5 g NaCl und 3 g KCl. Der Cholesteringehalt der Formeldiäten betrug 0,6 g. Als beste Form der Darreichung erwies sich das Anrühren mit 500 g warmen Wasser. Der Brei wurde in Tüten verpackt, die im Kühlschrank einige Tage aufbewahrt werden konnten. Es wurden insgesamt 3 verschiedene Formeldiäten (II,V,VII) verabreicht, die sich in Bezug auf ihre Fettzusammensetzung unterschieden. Der Anteil an gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Fettsäuren wurde verändert (Tab 1).

Es wurden Olivenöl, Distelöl und ein synthetisch hergestelltes Fett der Firma Unilever verwendet. Die gaschromatographisch bestimmte Zusammensetzung der drei Fettarten zeigt Tab. 2. Um zeitliche Einflüsse bei dem Ernährungsexperiment auszuschließen, erfolgte die Zuteilung zu den Formeldiäten in unterschiedlicher Reihenfolge. Drei Gruppen mit je 2 Personen erhielten jede der Formeldiäten jeweils 2 Wochen lang (Tab. 3).

Zur Vitaminsubstitution erhielten die Versuchspersonen täglich eine Kapsel eines Multivitaminpräparates (Multibionta^R). Um den täglichen obligaten Eisenverlust

auszugleichen und auch einem Eisenmangel durch die Blutabnahmen vorzubeugen, wurde 2 x wöchentlich 499,5 mg Eisen-II-sulfat entsprechend 100 mg Fe II (Ferro 66 DL^R) gegeben.

Als Geschmackskorrigentien für die Formeldiät konnten Vanillin, Zimt und Kaffee verwendet werden. Energiefreie Flüssigkeiten wie Tee, Kaffee ohne Milch und Zucker, sowie Mineralwasser konnten in beliebiger Menge getrunken werden. Zum Süßen standen Süßstoff (Sacharin) und Dextropur zur Verfügung. Die verwendete Menge Dextropur wurde zur Kalorienberechnung notiert und sollte 30 g pro Tag nicht übersteigen. Medikamente durften während der Versuchsdauer nur mit Erlaubnis der betreuenden Ärzte eingenommen werden.

Jede Versuchsperson bekam täglich eine Breimenge entsprechend 3000 Kcal. Davon sollte jeder auf mindestens 4 Mahlzeiten verteilt, soviel essen, daß sein Gewicht möglichst konstant blieb. Das Körpergewicht wurde täglich kontrolliert, die Flüssigkeits-, Energie- und Elektrolytbilanz wurde täglich erstellt.

2.2. Versuchspersonen

An dem Ernährungsexperiment nahmen eine weibliche und fünf männliche, gesunde und normalgewichtige Versuchspersonen teil (Tab. 4). Das Alter der Versuchspersonen lag zwischen 24 und 28 Jahren, das Körpergewicht zwischen 45,6 und 83,5 kg.

Da jede Versuchsperson die Ergebnisse des Ernährungsexperiments zur Promotionsarbeit verwendete, kann eine gute Mitarbeit bei der Durchführung des Versuchs angenommen werden. Der individuelle Energiebedarf wurde für jede Versuchsperson aus einem 7-tägigen Ernährungsprotokoll vor Versuchsbeginn errechnet. Er lag zwischen 1600 Kcal und 3000 Kcal (Tab. 4).

Die Versuchspersonen werden im folgenden mit den Buchstaben A, B, C, D, E und F bezeichnet.

2.3. Versuchsablauf

Der Formeldiätversuch dauerte 43 Tage. Die Blutabnahmen für die Bestimmungen waren stets am Morgen des drittletzten und letzten Tages einer zweiwöchigen Formeldiätperiode. Es wurde venöses Blut nach zwölfstündiger Nahrungskarenz in EDTA Röhrchen abgenommen, welches bei 4° C und 3000 upm 20 Min. lang zentrifugiert wurde. Das überstehende Plasma wurde abgesaugt und mit der präparativen Ultrazentrifuge in die Lipoproteinfraktionen getrennt. Im Gesamtplasma und den Lipidfraktionen wurde die Proteinbestimmung nach Lowry und im Gesamtplasma zusätzlich die Bestimmung der β - Lipoproteine nach Mancini durchgeführt. Daneben erfolgte stets auch eine elektrophoretische Trennung der einzelnen UZ-Fraktionen, um die exakte Trennung der Lipoproteinfraktionen zu prüfen. Außerdem wurden im gleichen Labor in den Lipoproteinfraktionen und im Gesamtplasma Triglyceride, Cholesterin und Phosphatide gemessen. Bestimmungen dieser Parameter vor und 4 Monate nach der Formeldiätperiode dienten der Ermittlung der individuellen Ausgangswerte. Alle Versuchspersonen sammelten während der 6wöchigen Versuchszeit den 24 Stunden-Urin. Es wurde die ausgeschiedene Harnsäuremenge, die Elektrolyte Natrium, Kalium, sowie Kreatinin bestimmt.

2.4. Bestimmungsmethoden

2.4. 1. Proteinbestimmung mit Hilfe des

Folin - Ciocalteu - Phenol - Reagenz

Die Proteinkonzentration war in der UZ-Fraktion zum Teil unter 100 mg/100 ml. Da in diesem Bereich die allgemein gebräuchliche Biuret-Probe zu unempfindlich ist, wurde die etwa 100 mal empfindlichere Folin - Ciocalteu - Methode angewandt. Diese wurde 1951 von O.H. Lowry veröffentlicht und von H.P. Rieder modifiziert (13). Sie ist 10 - 20 mal empfindlicher als die UV-Absorptionsmessung bei 280 nm und mehrfach genauer als die Ninhydrin - Reaktion und einfacher in der Durchführung (1). Wegen des geringeren Arbeitsaufwands ist diese Methode auch dem sehr empfindlichen Verfahren nach Kjeldahl vorzuziehen.

Der Proteinnachweis beruht auf der Reaktion des Folin-Ciocalteu Reagens mit dem im Eiweiß enthaltenen Tyrosin (1). Ein Nachteil der Methode ist die unterschiedliche Farbsensitivität bei einzelnen Proteinen. Dies ist durch den unterschiedlichen Tyrosingehalt einzelner Proteine bedingt. Besonders fällt dies bei Trypsin und Gelatine ins Gewicht. Das Verhältnis von Farbsensitivität zur Eiweißkonzentration ist nicht linear (1). Unterhalb $E=0,8$ bis $0,6$ weicht es nur wenig von einer linearen Beziehung ab. Sehr störend kann sich die Reaktionsbereitschaft von Folin - Ciocalteu - Phenol - Reagenz mit Stoffen wie Harnsäure, Phenole, Glycerin, Saccharose und anderen auswirken (1). Dies fiel bei unseren Untersuchungen nicht ins Gewicht. Um einerseits keine Extinktionen über $0,8$ zu erhalten und andererseits das Plasma

nicht zu stark vorverdünnen zu müssen, wurde nicht beim Absorptionsmaximum von 755 nm sondern bei 500 nm gemessen (1). Bei Nativ-Serum und UZ - Rest wurde 1 : 200 vorverdünnt. Zur Erstellung der Eichkurve wurden 0 μ l, 10 μ l, 20 μ l, 50 μ l, 100 μ l, 150 μ l und 200 μ l Rinderalbuminlösung (100 mg%) eingesetzt und auf 200 μ l mit physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt.

Die nach Lowry, modifiziert nach Rieder, durchgeführte Arbeitsvorschrift verwendet als Reagenzien (13, 1):

Lösung C: 50 Teile 2 % Na_2CO_3 in 0,1 NaOH

1 Teil 0,5 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ in K-Na-Tartrat

Lösung D: 1 Teil H_2O

1 Teil Folin - Ciocalteu - Phenol - Reagenz

In ein Reagenzglas von ca. 10 ccm werden 190 μ l 0,9 % NaCl eingefüllt und 10 μ l Plasma- oder Proteinlösung dazu gegeben. Dann werden 2 ml frische Lösung C dazu pipettiert. Unter Schütteln werden 200 μ l Lösung D dazu gegeben und die Probe 3 Min. im Wasserbad bei 37° erwärmt. Danach wird sie 30 Min. bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Extinktion des UV - Lichtes wird bei 500 nm gemessen.

2.4. 2. Quantitative β - Lipoproteinbestimmung mit Hilfe der radialen Immundiffusion nach Mancini

Die β - Lipoproteine wurden immunologisch mit M-Partigen-Immundiffusionsplatten der Fa. Behringwerke AG. quantitativ bestimmt.

Diese Bestimmungsmethode wurde erstmals von Mancini, Carbonara und Heremann angegeben (12).

Entsprechend dem Konzentrationsgradienten diffundiert das zu untersuchende Eiweiß radial von einer zylinderförmigen Auftragstelle in ein gleichmäßig dickes Agargel, das ein spezifisches Antiserum enthält. Es bildet sich ein Präzipitationsring, dessen Fläche nach 2 - 3 Tagen, nach Abschluß der Diffusion, der Konzentration des untersuchten Lipoproteins proportional ist.

Auf die ersten 3 Auftragstellen jeder M-Partigen-Platte wird mit Hilfe einer Mikroliterspritze jeweils $5\mu\text{l}$ β - Lipoprotein Standardlösung in unterschiedlicher Konzentration aufgetragen. Auf Position 1 wird die Standardlösung unverdünnt eingesetzt. Auf Position 2 wird die 1 : 2 und an Position 3 die 1 : 4 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnte Standardlösung aufgetragen. An den übrigen Auftragstellen wurden $5\mu\text{l}$ des zu untersuchenden Plasmas aufgetragen. Nachdem die gut verschlossenen Platten bei Raumtemperatur ca. 50 Std. waagrecht standen, werden die Durchmesser der entstandenen Präzipitationsringe mit einer Messlupe abgelesen. Auf Millimeterpapier werden die quadrierten Durchmesser (D^2) der ersten drei Auftragstellen in Abhängigkeit von der Standard- β - Lipoproteinkonzentration von Position 1, 2 und 3 aufgetragen. Es resultiert eine Gerade deren Schnittpunkt mit der Ordinate bei 15 mm^2

lag (10). Die Konzentrationen der β -Lipoproteine in den zu untersuchenden Plasmaproben kann mit Hilfe der erstellten Eichkurve abgelesen werden (10).

Die Bestimmungen mit der Mancini - Methode wurden in der LDL-Fraktion, vergleichend zur Lowry - Methode durchgeführt. Um die beiden Werte vergleichen zu können, mußten bei der Methode nach Mancini die Lipidanteile abgezogen werden. Es wurde ein Proteinanteil von 20 % angenommen (14).

2.4. 3. Ultrazentrifugation der Plasmaproteine

In Polyallomer-Tubes wurden jeweils 8 ml Plasma und 4 ml Dichtelösung 1,006 gefüllt. Anschließend wurden die Tubes mit einer Metallkapsel luftfrei verschlossen. Mit dem Festwinkelrotor L 550 der Fa. Beckmann wurde dann mit 40 000 UPM bei 16° Celsius zentrifugiert. Nach 20 Stunden erfolgte eine Trennung in eine untere gelbe Schicht, eine breite klare Zwischenschicht und eine obere weiß-trübe Schicht. In Höhe der mittleren Schicht wurde mit einem Schneidegerät das Plastikröhrchen halbiert und der Überstand mit einer Spritze abgesaugt. Anschließend wurde die Verschlusskapsel und die obere Röhrchenhälfte mit 0,5 ml der Dichtelösung gespült um einen Substanzverlust zu vermeiden. Der Überstand und die Spülmenge wurden in ein graduiertes Röhrchen übertragen. In dieser 1. Fraktion waren die VLDL enthalten. Vom Unterstand (etwa 8,5 ml) wurden 6 ml für die LDL Abtrennung eingesetzt. Mit 6 ml Dichtelösung 1,120 wurden sie im Tube auf die Dichte 1,063 eingestellt. Dies erfolgte nach der Berechnung

$$6 \times 1,12 + 6 \times 1,006 = 12 \times 1,063.$$

Da die Tubes etwas mehr als 12 ml Inhalt hatten, wurde

mit 1,063 Dichtelösung aufgefüllt. Dann wurden die Tubes luftdicht verschraubt.

Das Zentrifugieren und Schneiden zum Abtrennen der LDL-Fraktion erfolgte wie bei der VLDL-Fraktion. Das Spülen der Verschlusskapsel und der oberen Röhrchenhälfte geschah mit der Dichtelösung 1,063.

5 ml des Unterstandes wurden mit 5,4 ml der Dichtelösung 1,346 und 1,6 ml der Dichtelösung 1,210 versetzt. Daraus ergab sich eine Dichte von 1,210 ($5 \times 1,063 + 5,4 \times 1,346 + 1,6 \times 1,210 = 12 \times 1,210$). Der Überstand nach der Ultrazentrifugation enthielt die HDL, während sich im Unterstand die restlichen Proteine befanden. Die Proteinkonzentrationen wurden auch im Gesamtplasma und im HDL-Unterstand gemessen. Die in den einzelnen Fraktionen gemessenen Proteinkonzentrationen wurden zusammengezählt und mit dem Proteingehalt des Gesamtplasma verglichen. Hieraus wurde die Ausbeute bestimmt (3, 4, 7).

2.4. 4. Berechnung der Proteinkonzentrationen

Bei der Aufstellung der Eichkurve wurden jeweils 0,1 ml, 5 μ l, 10 μ l, 20 μ l und dann in zehnerschritten steigende Mengen der Standardproteinlösung eingesetzt bis zu 200 μ l Standardlösung. Die Flüssigkeitsmengen wurden mit 0,9 % NaCl auf 200 μ l aufgefüllt. Da die Standardproteinlösung 100 mg / 100 ml Protein enthält, ist die eingesetzte Standardproteinlösung in μ l gleich dem Einsatz von Eiweiß in μ g. Die gemessene Extinktion entspricht daher der in 200 μ l 0,9% NaCl-Proteinlösung enthaltenen Proteinmenge in μ g.

Bei der Bestimmung des Proteingehalts aus den Fraktionen wurden 10 μ l zentrifugiertes Plasma mit 190 μ l 0,9 % NaCl verdünnt. Es ergab sich so der Verdünnungsfaktor 20. Das Gesamtplasma und der Rest wurden zusätzlich mit physiologischer Kochsalzlösung 1 : 10 vorverdünnt. Der Verdünnungsfaktor war dadurch $10 \times 20 = 200$. In 200 μ l NaCl-Plasmaverdünnung sind e μ g Eiweiß, wobei e der Zahlenwert für die auf der Eichkurve, bei einer bestimmten Extinktion, abgelesene Eiweißmenge in μ g ist.

Für VLDL, LDL und HDL gilt:

In 200 μ l Plasma sind $20 \times e$ μ g Eiweiß

In 100 ml Plasma sind $0,01 \times e$ g Eiweiß

Für das 1 : 10 vorverdünnte Gesamtplasma und den ebenfalls 1 : 10 vorverdünnten Rest gilt:

Gesamtverdünnung $10 \times 20 = 200$

In 100 ml Plasma sind $0,1 \times e$ g Eiweiß

Für die Berechnung des Proteinanteils in der VLDL-Fraktion wurde folgender Ansatz verwendet:

Einsatz: 8 ml Plasma

4 ml Dichtelösung

Protein (in g) in 100 ml Plasma =

$$= 0,01 \times e \times \frac{\text{VLDL Schnittmenge (ml)}}{\text{eingesetzte Plasamenge (= 8 ml)}}$$

Für die Berechnung des Proteinanteils in der LDL-Fraktion wurde folgender Ansatz verwendet:

Einsatz: 6 ml des Unterstandes vom VLDL

6 ml Dichtelösung

$$\begin{aligned} &\text{Protein (in g)} \\ &\text{in 100 ml Plasma} = 0,01 \times e \times \frac{\text{LDL Schnittmenge (ml)}}{\text{eingesetzte Plasmamenge (= 8 ml)}} \times \\ &\quad \times \frac{\text{Gesamtmenge des VLDL Unterstandes (ml)}}{\text{eing. Menge des VLDL Unterstandes (= 6 ml)}} \\ &\quad \boxed{\hspace{10em} (a) \hspace{10em}} \end{aligned}$$

Für die Berechnung des Proteinanteils in der HDL-Fraktion wurde folgender Ansatz verwendet:

Einsatz: 5 ml des LDL Unterstandes

7 ml Dichtelösung

$$\begin{aligned} &\text{Protein (in g)} \\ &\text{in 100 ml Plasma} = 0,01 \times e \times \frac{\text{HDL Schnittmenge (ml)}}{\text{eingesetzte Plasmamenge (= 8 ml)}} \times \\ &\quad \times (a) \times \frac{\text{Gesamtmenge des LDL Unterstandes (ml)}}{\text{eing. Menge des LDL Unterstandes (= 5 ml)}} \\ &\quad \boxed{\hspace{10em} (b) \hspace{10em}} \end{aligned}$$

Für die Berechnung des Proteinanteils im Rest wurde folgender Ansatz verwendet:

$$\begin{aligned} &\text{Protein (in g)} \\ &\text{in 100 ml Plasma} = 0,1 \times e \times \frac{\text{Unterstand der HDL (ml)}}{\text{eingesetzte Plasmamenge (= 8 ml)}} \times \\ &\quad \times (a) \times (b) \end{aligned}$$

Berechnung der Ausbeute:

$$\text{Ausbeute (in \%)} = \frac{\text{VLDL} + \text{LDL} + \text{HDL} + \text{Rest}}{\text{Gesamtplasma}} \times 100$$

In den nach obigen Formeln berechneten Proteinmengen sind die Eiweißanteile in den Lipoproteinfraktionen erfaßt.

3. Ergebnisse

3.1. Verhalten der Proteinkonzentration in der

VLDL-Fraktion des Plasmas

In Abbildung 2 a, b und c und in den Tabellen 5 - 8 sind die gemessenen Proteinkonzentrationen der VLDL-Fraktionen während Normalkost und Formeldiäten bei den 6 Versuchspersonen dargestellt. Die Darstellung entspricht nicht dem zeitlichen Ablauf, da die Zuteilung der Versuchspersonen zu den Formeldiäten unterschiedlich war. Unter dem Einfluß der Formeldiät II mit dem höchsten Anteil an gesättigten Fetten, sanken die Proteinkonzentrationen in den VLDL gegenüber den Werten unter Normalkost bei den Versuchspersonen B, D, E und F um 10 bis 42 mg%. Bei den ohnehin schon niedrigen Werten von A und C, 16 mg% bzw. 17 mg%, blieben sie nahezu konstant, während der hohe Ausgangswert (63 mg%) von F auf 21 mg% abfiel. Insgesamt lag die durchschnittliche Proteinkonzentration in den VLDL unter Formeldiät II mit 24 mg% um 14 mg% niedriger als unter Normalkost. Im Vergleich mit Formeldiät II stieg unter der Formeldiät V der Eiweißanteil in der VLDL-Fraktion bei Vp D, E und F geringfügig an und blieb bei Vp A, B und C fast konstant. Gegenüber den Kontrollwerten bewirkten die einfach ungesättigten Fette der Diät V ebenfalls keine wesentliche Änderung. So waren bei Vp A, C und E die Unterschiede weniger als 5 mg%, während sich der Proteingehalt bei Vp D um 10 mg% erhöhte und bei Vp B und F abfiel. Verglichen mit dem Mittelwert der Vor- und Nachkontrolle lag der Durchschnittswert um nur 7 mg% niedriger.

Auch unter der Verabreichung der Formeldiät VII änderte sich die Proteinkonzentration in der VLDL-Fraktion nicht

wesentlich. So lagen die Durchschnittswerte um nur 5 mg% niedriger als unter Normalkost. Bei den Vp A, B, C, D und E betrugen die Änderungen 5 - 15 mg%. Nur bei Vp F lag der Abfall hier ebenso wie bei Diät II und V zwischen 30 und 40 mg%.

3.2. Verhalten der Proteinkonzentrationen in der LDL-Fraktion des Plasmas nach Lowry und Verhalten der β - Lipoproteinkonzentrationen im Plasma nach Mancini

Sowohl die Bestimmung mit Hilfe der Immundiffusionsplatten, als auch die Bestimmung mit der Lowry-Methode ergaben einen starken Abfall der LDL nach der Umstellung von Normalkost auf Formeldiät. Ausgehend von Mittelwerten von 107 mg% Proteingehalt der LDL (Lowry) und 119 mg% β - Lipoproteingehalt (Imm.diff.) sanken die Werte bei beiden Bestimmungsmethoden um 25 - 40 mg%. Die hohen Werte von Vp B, E und F fielen dabei mehr ab, als die ohnehin geringeren von Vp A, C und D.

Der Einfluß der verschiedenen Fettsorten wirkte sich dagegen kaum aus. So lag bei Formeldiät II die durchschnittliche Proteinkonzentration in der LDL-Fraktion bei 81 mg% (Lowry) bzw. 84 mg% (Imm.diff.) bei Formeldiät V bei 88 mg% (Lowry) bzw. 86 mg% (Imm.diff.) bei Formeldiät VII bei 83 mg% (Lowry) bzw. 80 mg% (Imm.diff.). Der erwartete Anstieg der Proteinkonzentration in der LDL-Fraktion unter Einwirkung der Formeldiät II mit ihrem hohen Anteil an gesättigten Fetten blieb also ebenso aus, wie der Abfall durch Formeldiät VII mit über 50 % mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Die wenig höheren Werte bei Formeldiät VII ließen keine Veränderung außerhalb der Meßgenauigkeit erkennen. Die durchschnittliche Differenz der beiden Bestimmungsmethoden betrug etwa 12 mg% (Abb. 6).

3.3. Verhalten der Proteinkonzentrationen in der

HDL-Fraktion des Plasmas

Die Ausgangswerte der Proteinkonzentration in der HDL-Fraktion lagen zwischen 168,5 - 204 mg% im Mittel bei 181,5 mg%. Unter dem Einfluß der Formeldiät II fiel bei Versuchsperson C der Wert von 170,5 mg% auf 151,8 mg%, während bei den anderen Versuchspersonen die Änderung maximal bei 7 mg% lag. Der durchschnittliche Abfall betrug nur 4,2 mg%, dies entspricht etwa 2,2 % vom Normalwert.

Bei Diät V fiel der Mittelwert um 7 mg% auf 174,4 mg% und bei Diät VII um 10 mg% auf 171,7 mg%. Auffällig war, daß die einzelnen Werte keine einheitliche Tendenz zeigten. Während z.B. bei Diät V die Proteinkonzentration in der HDL-Fraktion für Versuchsperson A, B, E und F um 5 - 33 mg% fielen, stiegen sie bei Versuchsperson C und D um 10 - 25 mg%. Ähnlich lagen die Verhältnisse bei Diät VII. Es ließ sich daher keine Abhängigkeit der verabreichten Fettarten auf den Proteingehalt der HDL-Fraktion im Plasma erkennen (Abb. 5 a, b und e).

3.4. Verhalten des Gesamteiweiß im Plasma und die Errechnung der Ausbeute in den UZ-Fraktionen

In den mit den einzelnen Ultrazentrifugenläufen abgetrennten Lipoproteinfraktionen wurde das Eiweiß bestimmt. Da auch der Eiweißgehalt des HDL-Unterstandes gemessen wurde, konnte die Summe des Eiweißgehaltes aller abgetrennten Fraktionen mit dem Eiweißgehalt des Gesamtplasmas verglichen werden. Die Differenz zwischen der Summe der Eiweißgehalte der Fraktionen und dem Eiweißgehalt des Gesamtplasmas konnte als Maß des Verlustes angesehen werden, der durch die Auftrennung entstand. Setzt man den Eiweißgehalt im Gesamtplasma gleich 100 %, so kann die prozentuale Ausbeute bei den Bestimmungen berechnet werden. Im vorliegenden Versuch lag die Ausbeute zwischen 67 und 85 %, im Durchschnitt bei 73 %. Obwohl die Ausbeute nicht sehr groß war kann sie akzeptiert werden, da die Streubreite gering war. Die Standardabweichung betrug 5,36. So darf angenommen werden, daß die Werte vergleichbar waren.

Beim Serumeiweiß war während der Versuchsdauer eine Zunahme von durchschnittlich 7,71 g% auf 8,2 g% festzustellen. Da gleichzeitig ein Gewichtsverlust aller Versuchspersonen auftrat, könnte diskutiert werden, ob dies auf einen Eindickungseffekt infolge eines Wasserverlustes beruhte. Die Zeit der größten Gewichtsabnahme lag in den ersten beiden Wochen der Formeldiät (Abb. 1).

4. Diskussion

Auf Grund ihrer geringen Wasserlöslichkeit sind nahezu alle Plasmafette Bestandteile bestimmter hochmolekularer Fett-Eiweißkomplexe. Ausnahmen bilden die kurzkettigen Fettsäuren. Außer dem Albumin, das freie Fettsäuren transportiert, besteht jedes Lipoprotein aus mehreren Komponenten: dem Proteinanteil (= Apoprotein), Cholesterin, Cholesterinester, Phosphate und Triglyceride. Das Verhältnis von Apoprotein zu Lipiden variiert zwischen 2 : 98 und 50 : 50, so daß sich verschiedene Lipoproteinklassen unterscheiden lassen (2). Je höher der Proteinanteil, desto größer ist das spezifische Gewicht und je höher der Lipidanteil desto geringer ist das spezifische Gewicht. Im Plasma von Stoffwechselgesunden lassen sich vier Hauptklassen von Lipoproteinen unterscheiden: die Chylomikronen, Very - Low - Density Lipoproteins (= prä- β -Lipoproteins), die Low-Density-Lipoproteins (= β -Lipoproteins) und die High-Density-Lipoproteins (= α -Lipoproteins). Der durchgeführte Versuch sollte die Wirkungen von gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Fetten auf den Proteinanteil der Lipoproteinfraktionen untersuchen. Dabei wurden die Chylomikronen nicht untersucht, da sie im Nüchternserum gesunder Versuchspersonen nicht vorkommen.

4.1. Einfluß der Formeldiäten auf die

Low-Density-Lipoproteine

Nichols (16) und Mitarbeiter zeigten, daß durch den Austausch gesättigter gegen mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Nahrung die LDL und in wesentlich geringerem Maße auch die VLDL innerhalb weniger Wochen gesenkt werden können. Bei einem kompletten Austausch der beiden Fettsäurearten stellte Ahrens (17) einen Rückgang des Serumcholesterinspiegels um 20 - 40 % fest, wobei das Cholesterin der LDL-Fraktion um 40 - 60 % abnahm. Hieraus kann jedoch nicht auf die Apoproteinkonzentration in der LDL-Fraktion geschlossen werden. Spritz und Miskel (18) nahmen an, daß die erhöhte Zufuhr mehrfach ungesättigter Fettsäuren einen erhöhten Platzbedarf der entsprechenden Cholesterinester am Lipoproteinmolekül nach sich zieht und hierdurch eine verminderte Beladung von Lipoproteinen mit den Cholesterinestern verursacht wird. Diese Annahme wird durch unseren Versuch insofern bestätigt, als sich die gemessene Proteinkonzentration in der LDL-Fraktion, ebenso wie die mit Immundiffusion bestimmte Konzentration des β -Lipoproteins unter den Formeldiäten nicht wesentlich änderte. Zwar lag bei den Bestimmungen mit Hilfe der Immundiffusionsplatten bei den Versuchspersonen A, B, E und F die β -Lipoproteinkonzentration bei der Diät mit dem hohen Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren etwas niedriger als bei der Diät mit den vorwiegend gesättigten Fettsäuren, doch waren zum einen die Unterschiede mit 5 - 15 mg% recht gering und zum anderen lieferte die Lowry-Methode bei einigen Versuchspersonen hierzu widersprüchliche Werte.

Beide Methoden bestätigten jedoch den starken Abfall der Proteinkonzentration in der LDL-Fraktion um 25 - 40 mg% bei allen Versuchspersonen nach der Umstellung von Normalkost auf Formeldiät. Hierfür dürfte vor allem der von Walkers (19) und Nichols (17) beschriebene Abfall der LDL und VLDL bei Gewichtsreduktion und die Umstellung von 40 bis 45 % Fett in der individuellen Kost (Ernährungsbericht 1972 auf 33 % Fett in der Formeldiät verantwortlich sein. Der besonders in der Anfangsphase des Versuchs bei allen Versuchspersonen aufgetretene Gewichtsverlust ist im wesentlichen als Wasserverlust zu interpretieren, bedingt durch die salzarme Ernährung. Ein genauer Vergleich der Gewichtsschwankungen mit den LDL-Konzentrationen läßt keine Gesetzmäßigkeit erkennen, dafür waren die Gewichtsveränderungen nach den ersten 2 Wochen zu gering (Abb. 1).

4.2. Einfluß der Formeldiäten auf die Very-Low-Density-Lipoproteine

Die Very-Low-Density-Lipoproteine werden in der Leber gebildet und sind mit 50 - 60 % endogenen Triglyceriden beladen. Bei einseitiger Kohlenhydraternährung kann es zu einer vorübergehenden oder persistierenden Vermehrung der VLDL kommen, wobei sich das Lipid-Protein-Verhältnis ganz erheblich zu gunsten der Triglyceride verschieben kann (17,20,24). In unserem Ernährungsversuch war die Kohlenhydratmenge bei allen 3 Formeldiäten mit 52 % der Energie konstant. Dies entspricht dem Kalorienanteil der Kohlenhydrate bei Normalkost. Deshalb war keine Beeinflussung der VLDL durch eine Kohlenhydratinduktion

zu erwarten. Entgegen der von Nichols (16) gemachten Erfahrung lagen die Proteinspiegel in der VLDL-Fraktion nach der Verabreichung der Diät VII, mit einem hohen Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren im Durchschnitt 7 mg% über den Werten nach Formeldiät II und V mit einem hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren. Die Werte bei Formeldiät V mit einem hohen Anteil an einfach ungesättigten Fetten lagen dazwischen. Die allgemeine Gewichtsreduktion machte sich wie erwartet (21) auch in den prä- β -Lipoproteinwerten bemerkbar, welche um durchschnittlich 9 mg% abnahmen (Tab. 10).

4.3. Einfluß der Formeldiäten auf die High-Density-Lipoproteine

Die HDL scheinen eine gewisse Sonderstellung unter den Lipoproteinen einzunehmen. Im Gegensatz zu den anderen Lipoproteinfraktionen finden einige Autoren bei Lipidstoffwechselstörungen in der HDL-Fraktion wenig Veränderungen (4). Rubin und Aladjim (22) beobachteten in den ersten Tagen einer hypokalorischen Kost im Unterschied zu den LDL und VLDL, bei der HDL-Konzentration keine Veränderung. Die durch mehrfach ungesättigte Fettsäuren induzierte Cholesterinspiegelsenkung wird nach Shepherd et al (25) zu 60 % durch eine Abnahme der LDL-Fraktion, zu 8 % durch eine Abnahme der VLDL-Fraktion und zu 32 % durch eine Abnahme der HDL-Fraktion bewirkt. Der Cholesterinanteil des HDL ändert sich dabei nicht, wogegen der Phospholipidanteil prozentual gesteigert wird, was einer prozentualen Zunahme des Proteinanteils im Lipoproteinmolekül entspricht.

In unserem Versuch ergab sich zwar bei Formeldiät II eine durchschnittliche Abnahme der Proteinkonzentration in der HDL-Fraktion von 4 mg%, bei Diät V um 7 mg% und bei Diät VII um 10 mg %, gegenüber Normalkost, doch waren die Schwankungen bei den einzelnen Versuchspersonen groß, sodaß eine Senkung des Proteinspiegels in der HDL-Fraktion durch mehrfach ungesättigte Fette nicht nachgewiesen werden konnte.

5. Zusammenfassung

Sechs stoffwechselgesunde, junge, normalgewichtige Versuchspersonen wurden 6 Wochen mit drei verschiedenen Formeldiäten in unterschiedlicher Reihenfolge ernährt. Jeweils zwei Versuchspersonen bekamen dieselbe Formeldiät über 2 Wochen. Die energetische Zusammensetzung der Formeldiäten war mit 52 % Kohlenhydrate, 15 % Eiweiß und 33 % Fett gleich, die Zusammensetzung des Fettanteils wurde verändert.

Es zeigte sich bei allen Versuchspersonen ein Abfall der Proteinkonzentrationen in den Lipoproteinfraktionen nach Umstellung von Normalkost auf die Formeldiäten. Am stärksten sank der Eiweißgehalt in den hauptsächlich Cholesterin transportierenden β -Lipoproteinen, im Durchschnitt um 25 - 40 mg%, weniger in den VLDL-Fraktionen, im Durchschnitt um 5 - 15 mg%. Nahezu unverändert blieb der Proteingehalt in der HDL-Fraktion. In der LDL-Fraktion konnte die mit der Methode nach Lowry gefundene Abnahme der Werte unter allen Formeldiäten auch mit der β -Lipoproteinbestimmung im Gesamtplasma nach Mancini nachgewiesen werden. Der Abfall der Proteinkonzentration könnte durch die während der ersten zwei Wochen des Versuchs eingetretene Gewichtsreduktion und durch die gegenüber der Normalkost geringere Fettzufuhr mitbedingt sein. Die Unterschiede in den Auswirkungen der verschiedenen Formeldiäten auf die Lipoproteine waren gering. Dies könnte zum einen durch die kurzen Versuchsperioden, zum anderen durch den niedrigen Fettgehalt der Formeldiäten bedingt sein.

Tabelle 1: Prozentuale Zusammensetzung des Fettanteils
der einzelnen Formeldiäten

Fettgemisch	SFA[%]	MUFA[%]	PUFA[%]	P:S Quotient
II	60,96	16,76	22,7	0,42
V	28,23	61,3	10,48	0,38
VII	27,34	16,07	56,59	1,67

Tabelle 2: Gaschromatographische Analyse der
verwendeten Fette

Fettart	MUFA [%]	PUFA [%]	SFA [%]
Unilever	16	2	82
Olivenöl	80	7	13
Distelöl	15	76	9

Tabelle 3: Zuteilung der Versuchspersonen zu den
einzelnen Formeldiäten

Versuchs- personen	1.u.2. Woche	3.u.4. Woche	5.u.6. Woche
A+B	VII	II	V
C+D	II	V	VII
E+F	V	VII	II

Tabelle 4:

Gewichtvergleich der Versuchspersonen A - F vor und nach dem Versuch und durchschnittlicher Kalorienverbrauch.

Vp.	Geschl.	Alter (Jahre)	Körper- größe (cm)	Körpergewicht		durchschnitt- licher Kalorien- verbrauch (Kcal)
				vor dem Versuch (kg)	nach dem Versuch (kg)	
A	m	24	178	66,0	64,0	2000
B	m	26	178	65,8	64,1	2000
C	w	25	154	49,2	45,6	1600
D	m	28	177	72,4	70,2	2000
E	m	24	180	65,7	64,4	2000
F	m	24	178	85,6	83,5	2000

Abb. 1: Gewichtsverlauf (kg) der sechs Versuchspersonen (A-F)

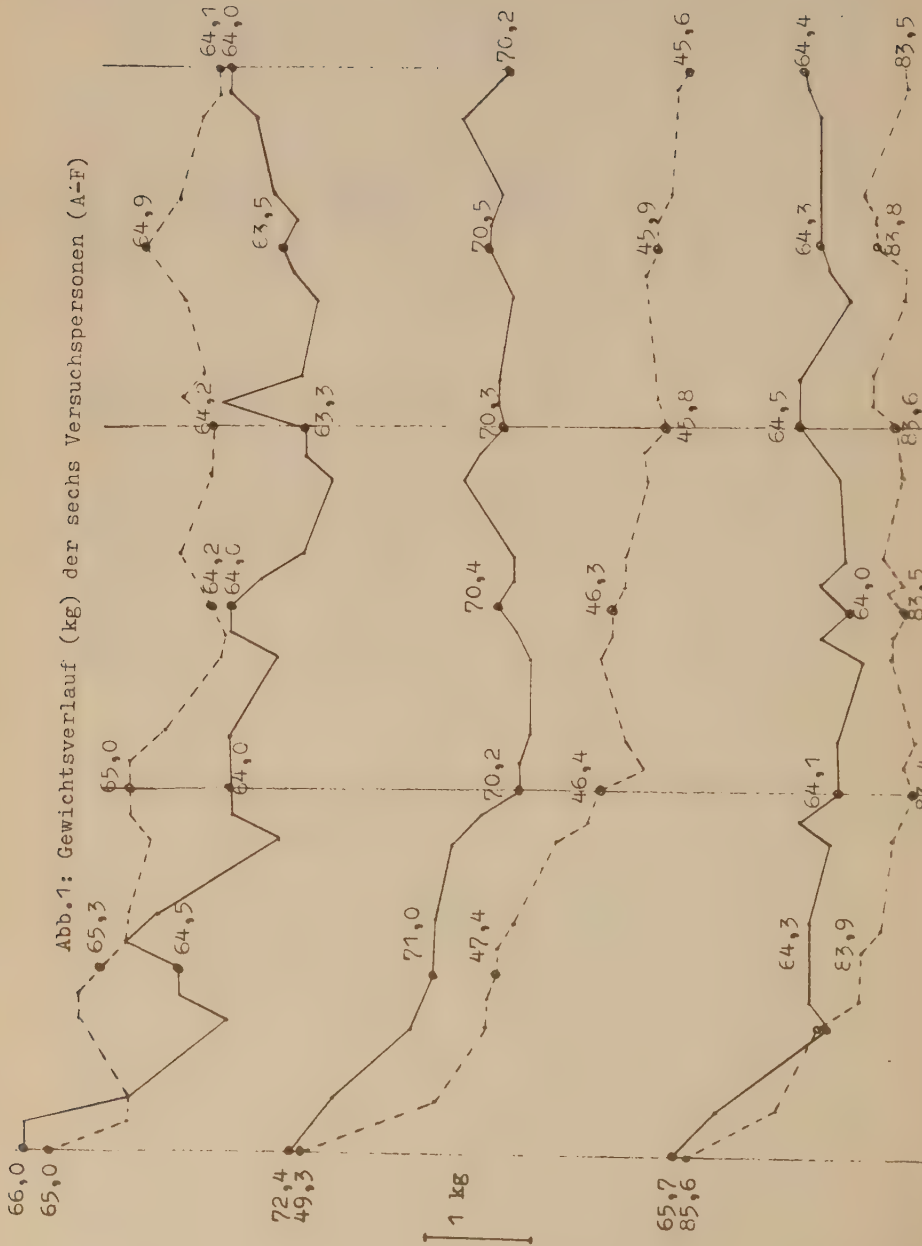


Abb.2a: Verhalten der Proteinkonzentrationen in der
VLDL - Fraktion bei Versuchsperson A und B

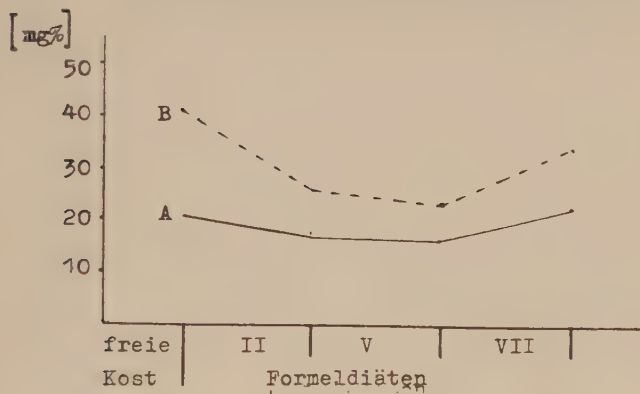


Abb.2b: Verhalten der Proteinkonzentrationen in der
VLDL - Fraktion bei Versuchsperson C und D

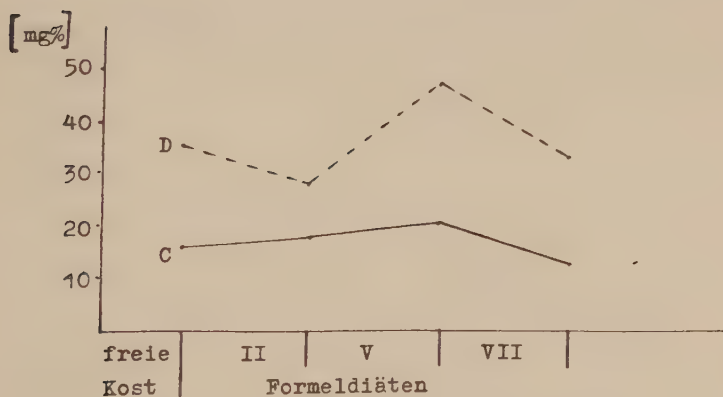


Abb.2c: Verhalten der Proteinkonzentration in der
VLDL - Fraktion bei Versuchsperson E und F

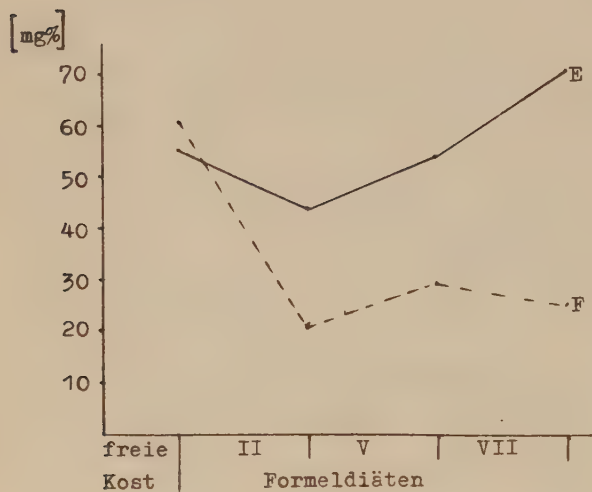


Abb.3a: Verhalten der Proteinkonzentrationen in der
LDL - Fraktion bei Versuchsperson A und B.

[mg%] Bestimmung nach der Lowry - Methode

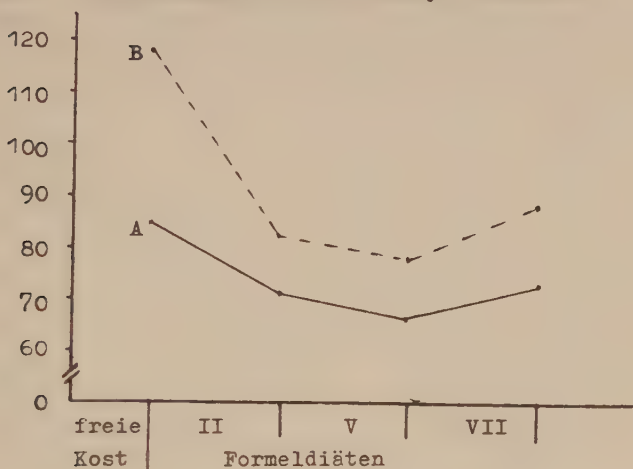


Abb.3b: Verhalten der Proteinkonzentration in der
LDL - Fraktion bei Versuchsperson C und D.

[mg%] Bestimmung nach der Lowry - Methode

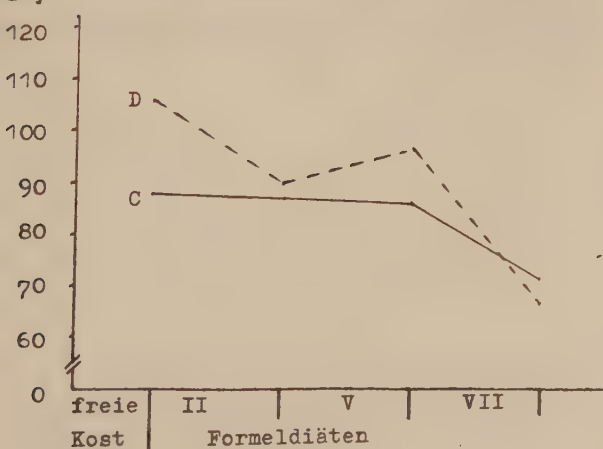


Abb.3c: Verhalten der Proteinkonzentrationen in der
LDL - Fraktion bei Versuchsperson E und F.
Bestimmung nach der Lowry - Methode

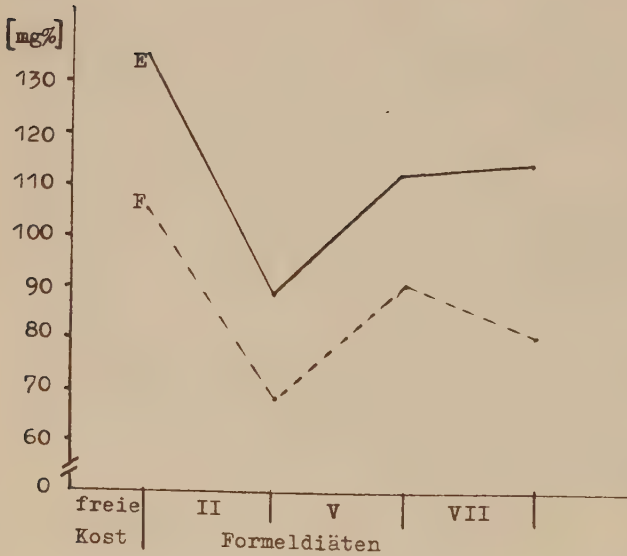


Abb.4a: Verhalten der β -Lipoproteinkonzentration im Plasma bei Versuchsperson A und B.

Bestimmung nach der Mancini - Methode.

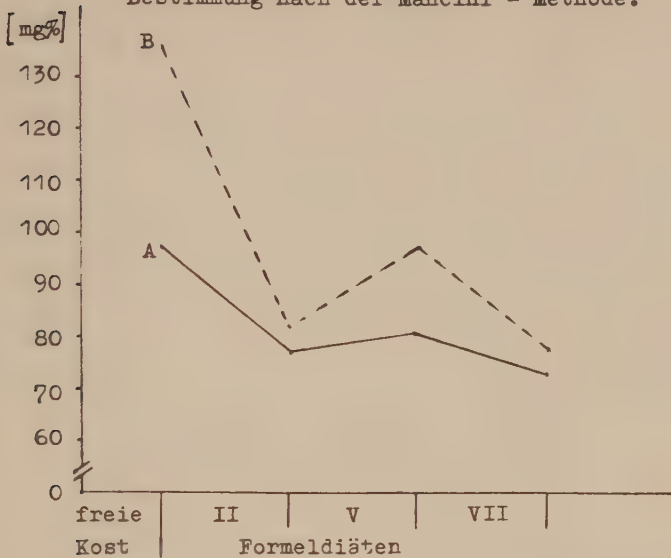


Abb.4b: Verhalten der β -Lipoproteinkonzentration im Plasma bei Versuchsperson C und D.

Bestimmung nach der Mancini - Methode.

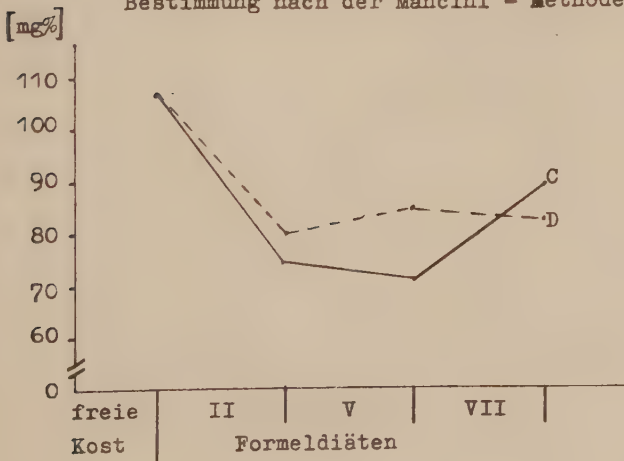


Abb.4c: Verhalten der β -Lipoproteinkonzentration im
Plasma bei Versuchsperson E und F.
Bestimmung nach der Mancini - Methode.

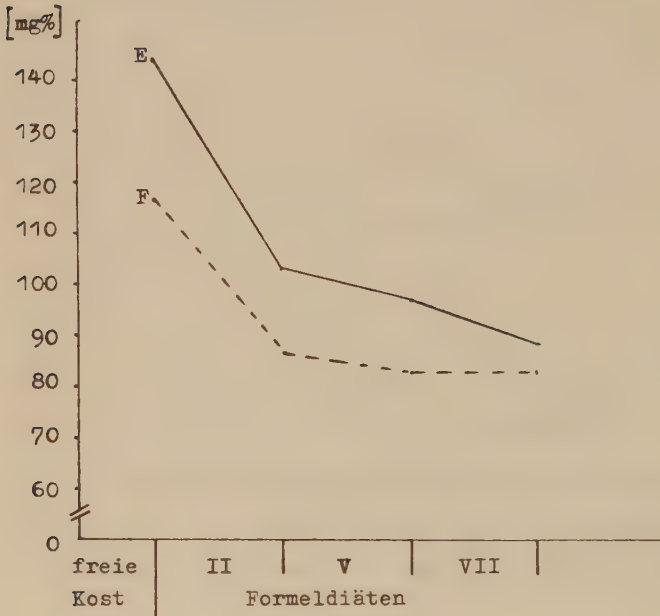


Abb.5a: Verhalten der Proteinkonzentrationen in der
HDL - Fraktion bei Versuchsperson A und B

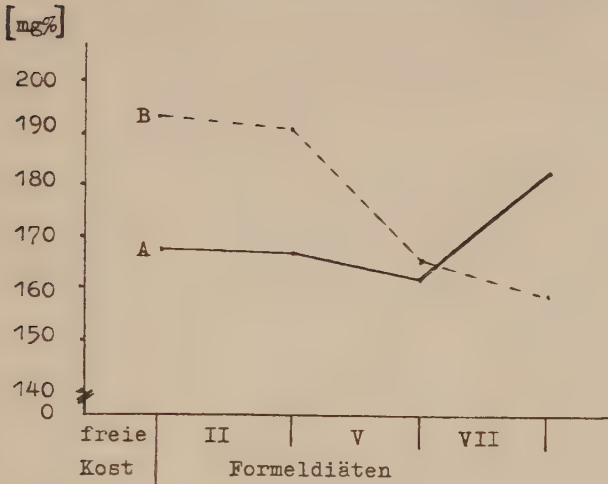


Abb.5b: Verhalten der Proteinkonzentrationen in der
HDL - Fraktion bei Versuchsperson C und D

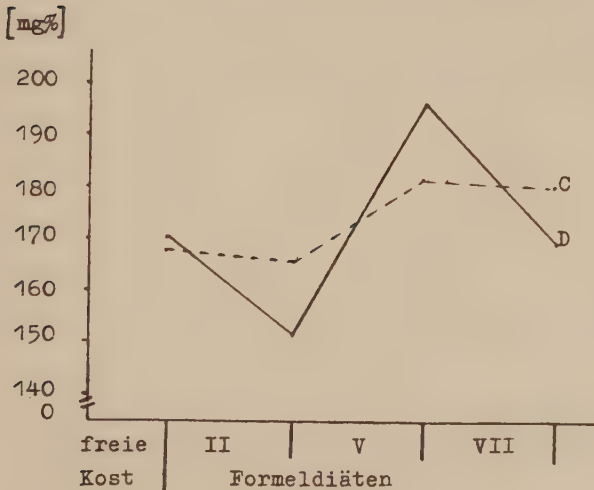


Abb.5c: Verhalten der Proteinkonzentrationen in der
HDL - Fraktion bei den Versuchspersonen E und F

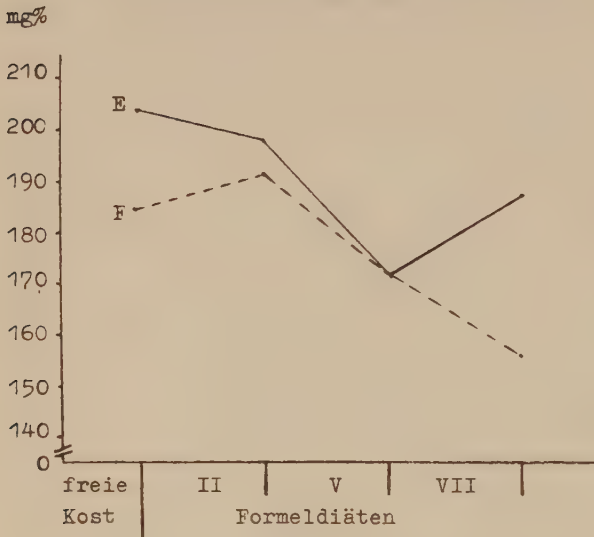


Abb.6: Korrelationsanalyse der zwei verwendeten Methoden
zur Eiweißbestimmung in der LDL - Fraktion.

Abszisse: nach der Lowry - Methode ermittelte Werte

Ordinate: nach der Mancini - Methode ermittelte Werte

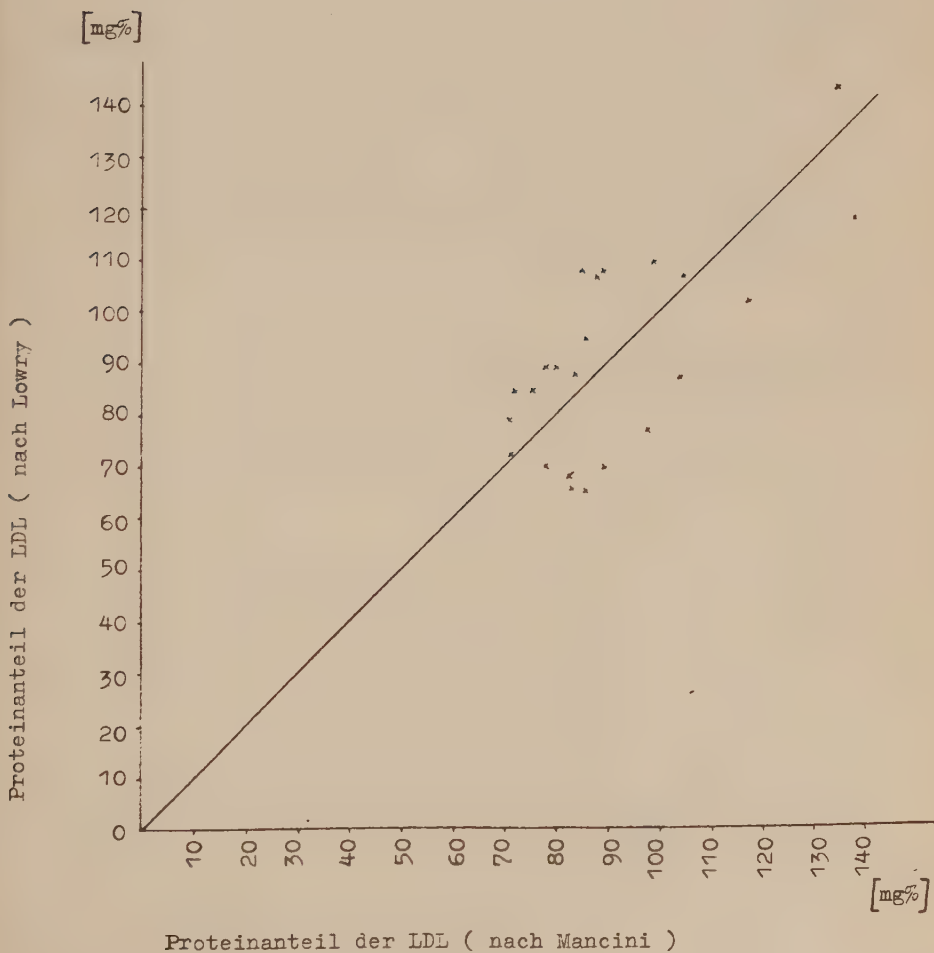


Abb.7a: Verhalten der gesamten Plasmaproteine
der Versuchspersonen A und B.

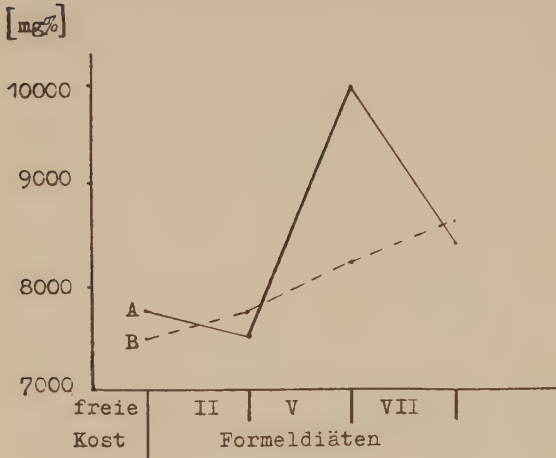


Abb.7b: Verhalten der gesamten Plasmaproteine
der Versuchspersonen C und D.

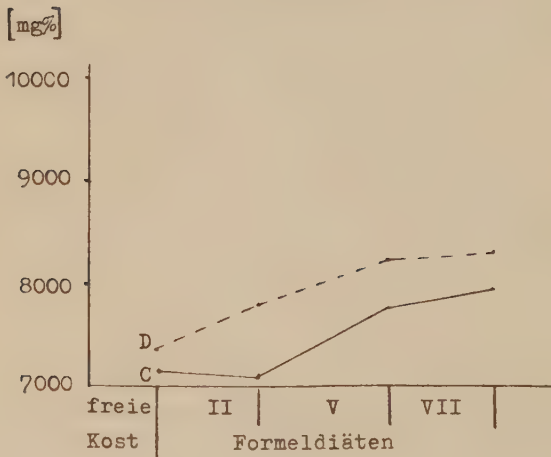
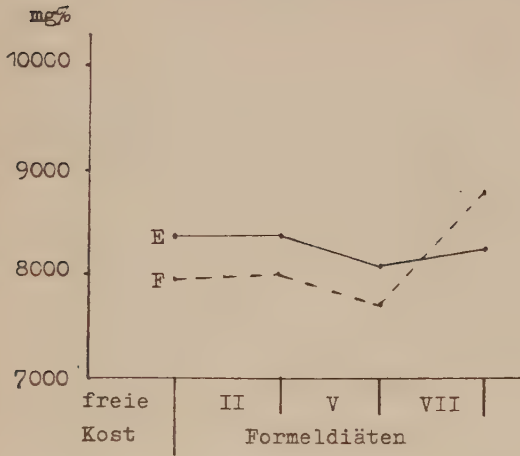


Abb.7c: Verhalten der gesamten Plasmaproteine
der Versuchspersonen E und F.



Tab. 5: Proteinkonzentrationen (in mg%) aus dem Gesamtplasma,
aus den VLDL-, LDL- und HDL-Fractionen und dem Rest
unter herkömmlicher Kost bei den Versuchspersonen A-F.
Ausbeute (=Recovery) in %.
Messungen vom 14.6., 16.6. und 8.11.

Vp	G.plasma	VLDL	LDL	HDL	Rest	Ausbeute(%)
A	7800	20,9	85,1	166,8	5102	70,3
B	7550	41,5	119,1	193,5	5164	73,1
C	7120	15,5	88,6	170,5	5238	77,4
D	7360	35,9	105,7	168,5	5702	81,6
E	8430	55,6	136,3	204,0	5626	72,2
F	8000	62,7	104,9	184,5	5584	74,2

Tab. 6: Proteinkonzentrationen (in mg%) aus dem Gesamtplasma,
aus den VLDL-, LDL- und HDL-Fractionen und dem Rest
nach 14-tägiger Diätverabreichung.
Messungen vom 28.6. und 30.6.

Vp	G.plasma	VLDL	LDL	HDL	Rest	Ausbeute(%)	Diät Nr.
A	7575	33,5	73,3	181,9	4904	68,5	} VII
B	7775	22,4	89,8	158,4	4718	62,8	
C	7115	17,5	86,3	151,8	4362	64,9	} II
D	7800	25,8	80,8	165,0	5689	76,5	
E	8450	54,6	111,8	170,7	5355	67,4	} V
F	8050	29,7	89,8	171,0	5460	71,4	

Tab. 7: Proteinkonzentrationen (in mg%) aus dem Gesamtplasma,
aus den VLDL-, LDL- und HDL-Fraktionen und dem Rest
nach 4-wöchiger Diätverabreichung.

Messungen vom 12.7. und 14.7.

Vp	G.plasma	VLDL	LDL	HDL	Rest	Ausbeute(%)	Diät Nr.
A	9995	16,6	70,4	165,4	5508	63,6	} II
B	8230	26,3	83,9	192,1	5436	70,4	
C	7780	20,5	85,2	197,8	5665	77,0	} V
D	8250	44,7	98,8	181,5	6037	77,0	
E	8220	72,6	114,2	186,1	5832	75,5	} VII
F	7730	25,3	80,2	154,5	5497	83,8	

Tab. 8: Proteinkonzentrationen (in mg%) aus dem Gesamtplasma,
aus den VLDL-, LDL- und HDL-Fraktionen und dem Rest
nach 6-wöchiger Diätverabreichung.

Messungen vom 26.7. und 28.7.

Vp	G.Plasma	VLDL	LDL	HDL	Rest	Ausbeute(%)	Diät Nr.
A	8470	15,6	66,2	161,6	6225	76,3	} V
B	8650	23,5	77,8	164,6	6207	74,8	
C	7995	13,1	70,2	169,8	5411	70,8	} VII
D	8350	34,8	68,0	179,7	5711	71,8	
E	8300	38,6	87,3	198,3	6295	79,8	} II
F	8850	20,7	66,4	191,1	6021	71,1	

Tab. 9: β -Lipoproteine mit Immundiffusionsplatten ermittelt.
Angaben in mg%.

Die Werte in Klammern geben die gemessenen β -Lipoproteine an. Die Werte außerhalb der Klammer geben die errechneten Proteinanteile an, wobei ein Proteinanteil von 20 % angenommen wurde (4,14,15).

Vp	Unter freier Kost	nach 2 Wochen Formeldiät	nach 4 Wochen Formeldiät	nach 6 Wochen Formeldiät
A	99,7 (498,5)	71,5 (357,6)	77,1 (385,7)	82,76 (413,8)
B	137,7 (688,9)	77,1 (385,3)	82,76 (413,8)	97,7 (488,5)
C	107,1 (535,9)	74,3 (371,5)	71,6 (358,0)	88,7 (443,4)
D	107,1 (535,9)	79,9 (399,6)	85,7 (428,4)	82,8 (414,5)
E	145,6 (728,0)	97,7 (488,5)	88,6 (443,0)	104,1 (520,5)
F	117,0 (585,2)	82,76 (413,8)	71,5 (357,6)	85,7 (428,4)

Tab.10: Durchschnittliche Proteinkonzentrationen(in mg%)
 der 6 Versuchspersonen in den UZ-Fraktionen am
 Ende der einzelnen Formeldiätperioden im Vergleich
 zu Werten von Stoffwechselgesunden aus der Literatur.

UZ-Fraktion	verabreichte Kost	mittlere Protein- konz	Werte nach Fredrickson 1972 (2)	Werte nach Eder (31)
VLDL	freie Kost	38,44	16 $\pm$ 10	—
	II	24,25		
	V	31,43		
	VII	33,60		
LDL (n. Lowry)	freie Kost	106,6	112 $\pm$ 29	82,3
	II	80,68		
	V	87,77		
	VII	82,62		
LDL (n. Mancini)	freie Kost	119,0	—	—
	II	83,97		
	V	86,37		
	VII	80,03		
HDL	freie Kost	181,50	52 $\pm$ 12	175,3
	II	177,30		
	V	174,40		
	VII	171,77		
Gesamtplasma- proteine	freie Kost	7710	—	—
	$\frac{V + II + VII}{3}$	8200		

Literatur

1. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randell R.J.:
Protein Measurements with the Folin Phenol Reagent,
J. Biol. Chem. 193, 265-275 (1951)
2. Hitzig W.H.: Die Plasmaproteine in der klinischen
Medizin, 56, Springer Verlag (1963)
3. Svedberg T., Pederson K.O.: The Ultracentrifuge,
Oxford: Clarendon Press (1940)
4. Undeutsch D.: Fettstoffwechselstörungen, 79-89,
Schettauer Verlag, Stuttgart (1975)
5. Klemens U.H., Schamlbeck J.: Quantitativer Vergleich
der Lipoprotein-Elektrophorese auf Celluloseacetat-
Membranen mit der Fraktionierung von Lipoproteinen
in der präparativen UZ
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 8, 162-165 (1970)
6. Fredrickson D.S., Levy R.J. Lees R.S.:
Fat Transport in Lipoproteins - An Integrated Approach
to Mechanisms and Disorders, New Engl. J. Med. 276,
34-44 (1967)
7. Viikari J., Haathi E., Helelä T.T., Juva K., Nikkari T.:
Fractionation of plasma lipoproteins with preparative
zonal ultracentrifugation, Scand. J. clin. Lab.
Invest. 23, 85 (1969)
8. Havel R.J., Eder Ho.A., Bragdon J.H.:
The Distribution and Chemical Composition of Ultra-
centrifugally Separated Lipoproteins in Human Serum.
J. clin Invest. 34, 1345-1353 (1955)

9. Lamerz R., Fateh-Moghadam A., Knedel M.:
Zur quantitativen immunologischen Bestimmung von
Serumproteinen. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11,
491-500 (1973)
10. Becker W., Rapp W., Schwick H.G., Störiko K.:
Methoden zur quantitativen Bestimmung von Plasma-
proteinen durch Immundiffusion
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 6, 113-122 (1968)
11. Eder H.A.: The Lipoproteins of human serum,
Am. J. Med. 23, 269 (1967)
12. Mancini, Carbonara, Heremans:
Immunochemistry 2, 235-254 (1965)
13. Rieder H.P. Verbesserung zur Methode der Eiweiß-
bestimmung mittels Cu (II) und Phenolreagenz nach
Folin Ciocalteau. Clin. Chim. Acta, 4 733-740 (1959)
14. Schultze H.E., Heremans J.F.: Molecular Biology of
Human Proteins with Special Reference to Plasma
Proteins, Vol 1, Elsevier, New York 1966
15. Piper W.: Innere Medizin, 295, Springer Verlag 1974
16. Nichols A.V., Dobbin V., Gofmann J.W.: Influence of
dietary factors upon human serum lipoproteins concen-
trations, Geriatrics 12, 7 (1957)
17. Ahrens A.H.: Nutritional factors and serum lipid level.
Seminar in atherosclerosis. Am. J. Med. 23, 928 (1957)
18. Spritz M., Miskel M.A.: Effects of dietary fats on
plasma lipids and lipoproteins
J. clin. Invest. 48, 78 (1969)
19. Walker W.J. et al: Effect of weight reduction and
caloric balance on serum lipoprotein and cholesterol
levels, Am. J. Med. 14, 654 (1953)

20. Schonfeld G.: Changes in the composition of very-low-density lipoprotein during carbohydrate induction in man, *J. Lab. clin. Med.*, 75, 206 (1970)
21. Kinsell W., Schlierf G.: Alimentary and non. alimentary hyperglyceridemia, *Am. N.Y. Acad. Sci.* 131, 606 (1965)
22. Rubin C., Aladjim F.: Serum lipoproteins changes during fasting in man, *Am. J. Physiol.* 178, 263 (1954)
23. Gordon T., Kannel W.B.: Premature mortality from coronary heart disease (The Framingham study), *JAMA* 215, 1617 (1971)
24. Rakow A.D., Ditschuneit H.H., Faulhauber J.D.: Fettsäuremuster von VLDL, LDL und HDL bei experimenteller kohlenhydratinduzierter Hypertriglyceridämie. In: *Die Lipoproteine des Blutes*, Steinkoff, Darmstadt 1973
25. Shepherd J., Packard C.J., Patsch J.R., Gotto A.M., Taunton C.D.: Effects of Dietary Polyunsaturated and Saturated Fat on the Properties of HDL and the Metabolism of Apolipoprotein A-I
J. clin. Invest. 0021 - 9738/78/0601 P. 1582-92, (1977)
26. Groen J., Tjiong B.K., Kamminga C.E., Willerbrands A.F.: Influence of nutrition, individuality and some other factors including various forms of stress, on the serum cholesterol : An experiment of nine months duration in 60 normal human volunteers, *Voeding* 13, 556 (1952)
27. Kinsell L.W., Partridge J., Boling L., Morgen S., Michaels G.: Dietary modification of serum cholesterol and phospholipid levels. Seminar in atherosclerosis, *Am. J. Med.* 23, 928 (1957)
28. Watkin D.M., Froeb H.F., Hatch F.T., Gutman A.B.: Effects of dietary in essential hypertension II, *Am. J. Med.* 2, 441 (1950)

Herrn Prof. Dr. G. Wolfram danke ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Arbeit.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Dr. C. Adam für die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung der Versuche und Anleitung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Sehr herzlich danke ich auch Frau R. Fischer und Fräulein E. Kirstätter für ihre Hilfeleistung beim Zentrifugieren und der Herstellung der Formeldiäten.

Lebenslauf

Alfred Veit

30.6.1952 geb. in Augsburg

Eltern: Franz Veit

Christine Veit, geb. Kühbacher

1959 - 1963 Grundschule in Stuttgart

1963 - 1966 Gymnasium in Stuttgart

1966 - 1972 Gymnasium in München

1972 Abitur am Rupprecht Gymnasium
in München

1973 - 1979 Studium der Zahnheilkunde an der
Ludwig Maximilian-Universität München

Winter 1978 Staatsexamen

1979 Grundwehrdienst als Zahnarzt
abgeleistet

